

Iranian Food Science and Technology
Research Journal
Homepage: https://ifstrj.um.ac.ir



Research Article
Vol. 19, No. 5, Dec.-Jan. 2023, p. 635-648

Preparation of Biopolymer Based on Agar Extracted from Persian Gulf Red Algae *Acanthophora* and Evaluation of Its Properties

P. Dianat[1], M. Haji Abdolrasouli*[2], M. Yousefzadi[3]

1- Studnet, Department of Marine Biotechnology, Faculty of Marine Science and Technology, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran

2- Assistant Professor, Department of Chemical Engineering, Faculty of Chemical Engineering, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran

(*- Corresponding Author Email: abdorrasouli@hormozgan.ac.ir)

3- Full Professor, Department of Biology, Faculty of Science, University of Qom, Qom, Iran

Received: 2022.09.10 Revised: 2022.12.24 Accepted: 2023.01.01 Available Online: 2023.01.02	**How to cite this article:** Dianat, P., Haji Abdolrasouli, M., & Yousefzadi, M. (2023). Preparation of biopolymer based on agar extracted from Persian Gulf red algae *Acanthophora* and evaluation of its properties. *Iranian Food Science and Technology Research Journal, 19*(5), 635-648. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/ifstrj.2023.78025.1196

Introduction

Consumer demand for healthy food free of chemical preservatives and environmental concerns with plastic packaging environments are analyzed, which can be replaced by aquatic environments that can be contaminated, for the development of bio-based packaging materials. Natural polymers have the ability to be biodegradable due to the presence of oxygen or nitrogen atoms in their main polymer chain compared to the dominant carbon-carbon bonds in fossil-based polymers. Among the various biopolymers used to prepare multilayer films, polysaccharides are considered as the main components of the film due to their abundance and non-toxicity. These films generally have good mechanical strength, moderate physical properties, and most importantly, are edible and easily degradable. However, they are very brittle and hydrophilic, and these properties are undesirable in food packaging applications. Among polysaccharides, agar, commercially extracted from seaweed, is one of the most common and widely studied base materials. Agar is insoluble in cold water, but soluble in water at 90-100°C. When making an agar film, the solution and casting surface must be kept above the agarose gel setting temperature to avoid premature gelation. Compared to other biopolymers, agar is more stable at low pH and high temperature. This thermoplastic and biocompatible polysaccharide creates films with high mechanical strength, transparency and moderate barrier properties to carbon dioxide and oxygen, and most importantly, it is edible and easily biodegradable. Mixing agar with other polymers such as polyvinyl alcohol (PVA) and polyethylene improves the mechanical, thermal and biodegradability properties of bio composites. The main goal of this study is to make biofilms for use in packaging industries with agar polymer extracted from macroalgae species *Acanthophora* sp. Agar was extracted by sodium hydroxide/heating method and the film was prepared in combination with industrial polymer PVA and glycerol.

Materials and Methods

To make biofilms based on agar polymer, firstly, optimization of agar polymer extraction from macroalgae species *Acanthophora* sp. was done by sodium hydroxide/heating method, and in the next step, total phenolic compounds and the amount of soluble protein in extracted agar were measured. In the next step, glycerol with 30% by weight was used as a softener and PVA polymer with a weight ratio of 25% to the dry weight of agar powder was used to make bio composite by solvent casting method, in order to strengthen the mechanical and physical properties of bio composites. Characterization tests of the prepared composites included: XRD, FTIR and Tensile test. Laboratory tests include; The

https://doi.org/10.22067/ifstrj.2023.78025.1196

percentage of solubility in water and degree of swelling for all bio-composites were evaluated to determine the optimal physical properties of bio-films.

Results and Discussion

he results showed that; 15% extraction efficiency was obtained for sodium hydroxide/heating pretreatment method. The results of measuring the amount of total phenolic compounds in agar solution extracted by sodium hydroxide/heating method showed that the number of phenolic compounds in agar solution was 0.077 ± 0.004 in terms of mg of gallic acid/g of agar. The results of measuring the amount of protein in extracted agar determined by Bradford method showed that the agar solution contains 0.040 ± 0.019 mg/ml of protein. A decrease in the swelling rate and an increase in the water solubility of the agar bio composite occurred with the addition of glycerol and PVA polymer. The results of the tensile test showed that the addition of glycerol, a small hydrophilic molecule, to the agar bio composite leads to a decrease in the elastic modulus and an increase in flexibility. Adding PVA to agar/glycerol biofilm caused a decrease in the amount of elastic modulus and percentage of flexibility, which is the main factor of this phenomenon, the low values of elastic modulus and flexibility of PVA. Finally, the results confirm the use of these coatings for packing fruits and vegetables in tropical regions by increasing their shelf life for at least 5 days at 25°C.

Keywords: Bioplastic, Bio-polymer, Packing, Polysaccharide, PVA



نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران

https://ifstrj.um.ac.ir



مقاله پژوهشی

جلد ۱۹، شماره ۵، آذر- دی ۱۴۰۲ ص. ۶۴۸-۶۳۵

تهیه بیوپلیمر بر پایه آگار استخراج شده از جلبک قرمز *Acanthophora* خلیج فارس و ارزیابی خواص آن

پریسا دیانت[۱]- مهدی حاجی‌عبدالرسولی[۲]*- مرتضی یوسف زادی[۳]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۶/۱۹

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۰/۱۱

چکیده

در میان پلیمرهای زیستی مختلف مورد استفاده برای تهیه فیلم، پلی‌ساکاریدها به دلیل فراوانی و غیر سمی بودن به عنوان اجزای اصلی فیلم به‌شمار می‌آیند. مخلوط آگار با سایر پلیمرها مانند PVA، خواص مکانیکی و زیست تخریب‌پذیری کامپوزیت‌های زیستی بهبود می‌بخشد. هدف اصلی این پژوهش ساخت بیوپلیمر به منظور کاربرد در صنایع بسته‌بندی با آگار استخراج شده از ماکروجلبک *Acanthophora* در ترکیب با پلیمر صنعتی پلی‌ونیل‌الکل و گلیسرول است. برای ساخت بیوپلیمر آگار، در ابتدا بهینه‌سازی استخراج پلیمر آگار از ماکروجلبک با روش سدیم هیدروکسید/ گرمادهی انجام ودر مرحله بعد سنجش ترکیبات محلول آگار استخراجی صورت گرفت. سپس برای ساخت کامپوزیت زیستی با روش قالب‌گیری از گلیسرول (۳۰ درصد وزنی-وزنی) و پلیمر PVA (۲۵ درصد وزنی-وزنی) استفاده شد. نتایج نشان داد که بازده استخراج برای روش پیش‌تیمار سدیم هیدروکسید/گرمادهی ۱۵ درصد است. آزمون سنجش میزان کل ترکیبات فنلی محلول آگار استخراج شده نشان داد که میزان ترکیبات فنولی محلول آگار ۰/۰۰۴ ± ۰/۰۷۷ بر حسب میلی‌گرم اسید گالیک/ گرم آگار و میزان پروتئین محلول آگار استخراج شده، حاوی ۰/۰۱۹ ± ۰/۰۴۰ پروتئین بر حسب میلی‌گرم/میلی‌لیتر آگار است. نتایج آزمون کشش بیانگر این بود که افزودن گلیسرول به آگار باعث افزایش انعطاف‌پذیری و افزودن پلیمر PVA باعث افزایش در میزان استحکام کششی و بهبود خواص فیزیکی نظیر افزایش درجه تورم، کاهش درصد حلالیت در آب فیلم‌های زیستی برپایه آگار می‌شود. در نهایت نتایج، استفاده از این پوشش‌ها جهت بسته‌بندی میوه و سبزیجات در مناطق گرمسیری با افزایش طول عمر مفید آن‌ها به مدت حداقل تا ۵ روز در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد تایید می‌کند.

واژه‌های کلیدی: بسته‌بندی، بیوپلیمر، پلاستیک زیستی، پلی‌ساکارید، PVA

مقدمه

مواد بسته‌بندی به‌عنوان آلاینده‌های زیست محیطی در سراسر جهان عمل می‌کنند. زیرا عموما از پلیمرهای تجزیه‌ناپذیر از جمله پلی اتیلن، پلی‌پروپیلن و اتیلن ترفتالات ساخته شده‌اند. علاوه بر این، بسته بندی مواد غذایی بیشترین ضایعات بسته‌بندی را تشکیل می‌دهد، زیرا بازیافت بسته‌بندی مواد غذایی به‌دلیل باقیمانده مواد غذایی دشوار و گران است. بنابراین، توسعه مواد بسته‌بندی مواد غذایی ساخته شده از پلیمرهای زیست‌تخریب‌پذیر مورد نیاز است. همچنین تقاضای مصرف‌کننده برای غذای سالم و عاری از مواد نگهدارنده مصنوعی و نگرانی‌های زیست‌محیطی مرتبط با زباله‌های بسته‌بندی پلاستیکی تجزیه‌ناپذیر که اکوسیستم از جمله محیطهای آبی را آلوده می‌کنند،

۱- دانشجو، گروه زیست شناسی دریا، دانشکده علوم و فنون دریا، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران

۲- استادیار، گروه مهندسی شیمی، دانشکده مهندسی شیمی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران

(*- نویسنده مسئول: Email: abdorrasouli@hormozgan.ac.ir)

۳- استاد تمام، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه قم، قم، ایران

https://doi.org/10.22067/ifstrj.2023.78025.1196

منجر به توسعه مواد بسته‌بندی زیستی جایگزین شده است. پلاستیک های زیستی عمدتاً از زیست توده‌های تجدیدپذیر مانند پلی‌ساکاریدها و پروتئین‌هایی که جایگزین‌های جذابی برای پلیمرهای پلاستیکی بر پایه نفت هستند، تهیه می‌شوند (Spierling *et al*., 2018). پلیمرهای طبیعی به دلیل وجود اتم‌های اکسیژن یا نیتروژن در زنجیره اصلی پلیمری آن‌ها در مقایسه با پیوندهای کربن-کربن غالب در پلیمرهای برپایه نفت، قابلیت زیست تخریب‌پذیری دارند (Kumar *et al*., 2018). در میان پلیمرهای زیستی مختلف مورد استفاده برای تهیه فیلم‌های چند لایه، پلی‌ساکاریدها به دلیل فراوانی و غیرسمی بودن به عنوان اجزای اصلی فیلم به‌شمار می‌آیند. این فیلم‌ها عموماً دارای استحکام مکانیکی خوب، خواص فیزیکی متوسط و مهم‌تر از همه، خوراکی هستند و به راحتی تجزیه می‌شوند. با این حال، آن‌ها بسیار شکننده و آب‌دوست هستند. این ویژگی‌ها در کاربردهای بسته‌بندی مواد غذایی نامطلوب هستند. نشاسته، آگار، سلولز و مشتقات آن، پکتین، کیتوزان، آلژینات و کاراگینان مواد پلی‌ساکارید اصلی هستند که به عنوان مواد بسته‌بندی خوراکی عموما مورد استفاده قرار می‌گیرد (da Rocha *et al*., 2018). در میان پلی‌ساکاریدها، آگار که به صورت تجاری از جلبک های دریایی استخراج می‌شود، یکی از رایج ترین مواد پایه‌ای است که به طور گسترده مورد مطالعه قرار گرفته است (Basumatary *et al*., 2018; Hernández *et al*., 2022; Kumar *et al*., 2019; Madera-Santana *et al*., 2011). آگار در آب سرد نامحلول است، اما در دمای ۹۰ تا ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد در آب محلول است. هنگام ساخت یک فیلم آگار، محلول و سطح قالب‌گیری باید بالاتر از دمای تنظیم ژل آگاروز نگهداری شود تا از ژل شدن زودرس جلوگیری شود. در مقایسه با سایر پلیمرهای زیستی، شفاف و با خواص سدپذیری متوسط نسبت به گاز کربن‌دی‌اکسید و اکسیژن ایجاد می‌کند و مهم‌تر از همه، خوراکی و به آسانی قابل تجزیه زیستی است (da Rocha *et al*., 2018). مخلوط آگار با سایر پلیمرها مانند پلی‌وینیل الکل (PVA) و پلی‌اتیلن، خواص مکانیکی، حرارتی و زیست‌تخریب‌پذیری کامپوزیت های زیستی بهبود می‌بخشد (Madera-Santana *et al*., 2009). PVA یک ماده با انحلال‌پذیری عالی است که به دلیل ماهیت محلول در آب، زیست تخریب‌پذیری و سازگاری بالا آن برای کاربردهای بسته بندی، استفاده می‌شود (Haghighi *et al*., 2021; Lee *et al*., 2021; Mathew *et al*., 2019). این پلیمر غیرسمی سنتزی و نیمه کریستالی شفاف، بی بو، بسیار انعطاف‌پذیر با خواص امولسیون‌کنندگی و چسبندگی عالی است. از این رو، PVA در چسب‌ها و پوشش‌های کاغذ و مواد بسته‌بندی استفاده می‌شود. اما محدودیت‌های این پلیمر شامل ماهیت قطبی بالا، بازدارندگی ضعیف و خواص مکانیکی نامطلوب می‌باشد (Madera-Santana *et al*., 2014). تا اکنون ساخت پلاستیک زیستی توسط محققان با استفاده از پلیمرهای مختلف؛ از جمله نشاسته از منابع گیاهی مختلف (Fakhouri *et al*., 2013; Marichelvam *et al*., 2019; Marichelvam *et al*., 2022)، ژلاتین استخوان جانداران (Fakhouri *et al*., 2012; Susilawati *et al*., 2019; Wulandari *et al*., 2022)، کیتوزان (Hasan and Rahmayani, 2018; Suryanegara *et al*., 2021)، پلی‌لاکتیک‌اسید (Abdullah *et al*., 2019; Yusoff *et al*., 2021)، آگار (Arham *et al*., 2018; Basumatary *et al*., 2018; Hii *et al*., 2016; Hong *et al*., 2021; Kumar *et al*., 2019; Rhim, 2011; Rhim *et al*., 2013; Shankar *et al*., 2014) و آگار در ترکیب با سایر بیوپلیمرها (Lee *et al*., 2021; Madera-Santana *et al*., 2014; Madera-Santana *et al*., 2011; Madera-Santana *et al*., 2009; Nguyen *et al*., 2021; Orsuwan *et al*., 2016) انجام شده است. در مطالعه حاضر آگار استخراج شده از ماکروجلبک قرمز *Acanthophora* در ترکیب با پلیمر PVA برای تولید فیلم‌های زیستی مورد استفاده و خواص فیزیکی و مکانیکی آن مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

ماده اولیه جهت استخراج پلی‌ساکارید آگار شامل سدیم هیدروکسید از شرکت سیگما آلدریچ (کشور آلمان) است. در ساخت پلاستیک زیستی از گلیسرول و پلیمر صنعتی پلی‌وینیل الکل با وزن مولکولی ۷۲۰۰۰ دالتون تهیه شده از شرکت مرک (کشور آلمان) استفاده شد.

جمع‌آوری و شناسایی جلبک قرمز دریایی

جهت استخراج آگار، ماکروجلبک قرمز در پاییز از ناحیه جزرومدی، در زمان حداکثر جزر از سواحل شیب‌دراز جزیره قشم واقع در خلیج فارس جمع‌آوری گردید. توده‌های جمع‌آوری شده با آب دریا شسته شد و بعد از جداسازی شن و یا جانداران اپی‌فیت به آزمایشگاه زیست‌فناوری دریایی دانشگاه هرمزگان منتقل گردید و نمونه‌ها چندین بار با آب شهری شستشو شد تا هر گونه مواد و جسم خارجی از جلبک خارج شود. در آخرین مرحله شستشو، یک بار با آب مقطر شسته شد تا شوری اضافه زدوده گردد و سپس در سایه در رطوبت ۵۰٪ و در دمای اتاق (۲۵ درجه سانتی‌گراد) خشک گردید. نمونه جمع‌آوری شده با کلیدهای شناسایی معتبر [۱۴-۱۶]، اطلس و چک لیست‌های موجود از ماکروجلبک‌های منطقه خلیج فارس [۱۷, ۱۸]، جست وجو در پایگاه علمی بانک جلبک (Algae base) و نیز براساس خصوصیات مورفولوژیک تا سطح جنس شناسایی شدند.



شکل ۱- ماکرو جلبک قرمزگونه *Acanthophora* sp. عکس از نگارنده

Fig. 1- Red macroalgae *Acanthophora* sp. Photo by the author

استخراج پلیمر آگار

برای استخراج آگار از ماکروجلبک بومی خلیج فارس جنس *Acanthophora* استفاده شد. استخراج به روش گرمادهی صورت گرفت. علاوه بر این، اثر یک مرحله پیش تصفیه قلیایی اولیه برای حذف ناخالصی‌ها از جلبک دریایی خام، قبل از فرآیندهای استخراج نیز مورد بررسی قرار گرفت (Martínez-Sanz *et al*., 2019). در ابتدا، نمونه‌های یک گرمی ماکروجلبک خشک شده در۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر غوطه‌ور شد و سپس جهت افزایش خلوص و قدرت ژل شدگی آگار استخراج شده، سدیم هیدروکسید ۱۰ درصد (وزنی- حجمی) قطره قطره اضافه گردید تا به pH معادل ۱۱ برسد و سپس به مدت زمان ۲ ساعت در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد در حمام بن ماری (کمپانی Daihan Scientific، مدل WB-11) قرار گرفت. سپس فیلتراسیون با استفاده از دستگاه سانتری‌فیوژ (کمپانی سیگما، مدل 2-16P) صورت گرفت و چندین بار با آب شهری شستشو داده‌شد تا اسیدیته باقی‌مانده توده ماکروجلبک خنثی شود. در مرحله بعد باقی‌مانده ماکروجلبک در ۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر خیسانده شد و سپس به مدت زمان ۲ ساعت تحت تاثیر دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. بعد از انجام فیلتراسیون محلول آگار از باقی‌مانده توده ماکروجلبک جدا گردید و بعد از دو چرخه انجماد_ذوب (۲۱-۲۵ درجه سانتی‌گراد) خشک شد. در انتها میزان بازدهی استخراج آگار برای روش استخراجی فوق، طبق معادله ۱ محاسبه شد:

$$\text{Yield}\ (\%\ {}^{W}/_{W}) = \frac{dry\ weight\ agar(\text{g})}{initial\ dry\ weight\ seaweed(\text{g})} \times 100 \qquad (۱)$$

سنجش محتوی ترکیبات فنلی آگار

ترکیبات فنلی محلول آگار با روش رنگ‌سنجی فولین سیو کالتو با اندکی تغییر برآورد شد (Soleimani *et al*., 2022). اساس کار در این روش، احیا معرف فولین سیو کالتو توسط ترکیبات فنلی در محیط قلیایی و ایجاد کمپلکس آبی رنگ است که حداکثر جذب را در طول موج ۷۶۵ نانومتر نشان می‌دهد. در این آزمایش، ابتدا غلظت‌های مختلفی از اسیدگالیک (۰/۰۰۰۳ - ۰/۰۲۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) به‌عنوان استاندارد تهیه شد. به طور خلاصه، معرف فولین- سیو کالتو به نسبت ۱:۱۰ با آب مقطر رقیق شد و ۳ میلی لیتر از رقت نهایی با ۰/۶ میلی‌لیتر از نمونه محلول آگار (محلول در آب مقطر با غلظت ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) در دمای اتاق مخلوط شد. در نهایت ۲/۴ میلی‌لیتر کربنات سدیم (۷۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) اضافه شد و نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد در حمام بن ماری قرار گرفتند و مقادیر جذب در ۷۵۰ نانومتر خوانده شد.آب مقطر به عنوان بلانک استفاده شد. یک منحنی کالیبراسیون با استفاده از اسید گالیک به عنوان استاندارد ساخته شد و محتوای فنلی کل به صورت میلی‌گرم اسید گالیک در گرم آگار استخراج شده بیان شد. همه آزمایشات در سه تکرار انجام شد. میزان کل ترکیبات فنلی موجود در عصاره طبق فرمول ۲ محاسبه گردید:

$$C = c.\frac{v}{m'} \qquad (۲)$$

C میزان کل ترکیبات فنلی موجود در محلول آگار را نشان می‌دهد (mg/g)، c غلظت معادل اسیدگالیک که از منحنی استاندارد به‌دست می‌آید (mg/ml)، v حجمی از محلول آگار که با آن آزمایش صورت گرفت (ml) و 'm میزان آگار به دست آمده از یک گرم توده جلبک می‌باشد.

سنجش محتوی پروتئین آگار

محتوی پروتئین محلول آگار استخراجی، طبق روش برادفورد مورد سنجش قرار گرفت. در این روش، ۳۰۰ میکرولیتر از محلول آگار (۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) با ۳ میلی‌لیتر محلول برادفورد مخلوط شد. پس از ورتکس لوله‌ها و ماندن در دمای آزمایشگاه به مدت ۵ دقیقه، جذب مخلوط واکنش در دستگاه اسپکتروفتومتر (کمپانی Cecil، مدل ۹۰۰۰) و در طول موج ۵۹۵ نانومتر سنجیده شد. سپس میزان پروتئین نمونه‌ها با استفاده از نمودار استاندارد بر حسب میلی‌گرم بر میلی‌لیتر نمونه‌ها به‌دست آمد. میزان پروتئین محلول آگار با سرم آلبومین گاوی (Bovine serum albumin (BSA)) به عنوان استاندارد مقایسه شد. سدیم کلراید ۰/۱۵ مولار نیز به‌عنوان بلانک استفاده شد. جهت رسم نمودار استاندارد، ابتدا با استفاده از محلول ۰/۱۵ مولار سدیم کلراید، محلول ۰/۵ مولار سرم آلبومین گاوی در غلظت‌های ۰/۰۳۱، ۰/۰۶۲، ۰/۱۲۵ و ۰/۲۵ میلی‌گرم بر میلی لیتر تهیه شد، سپس آزمایش مانند روش بیان شده در بالا انجام شد.

آماده‌سازی بیوپلیمر

ساخت فیلم‌های زیستی آگار/گلیسرول طبق روش قالب‌گیری با اندکی تغییر انجام شد. برای بهینه‌سازی نسبت آگار استخراجی و

نرم‌کننده گلیسرول، ۲/۵ گرم پودر آگار استخراجی با۱۰، ۲۰، ۳۰ و۴۰ درصد (وزنی-وزنی) گلیسرول مخلوط شد. در ابتدا، پودر آگار خشک (۲/۵ گرم) در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر ۹۰ درجه سانتی‌گراد با هم زدن به‌طور مداوم در دور بالا با استفاده از دستگاه هیتر همزن مغناطیسی (کمپانی IKA آلمان، مدل RH Basic 2) مخلوط شد، تا محلول شفاف شود. سپس گلیسرول به میزان ۱۰،۲۰،۳۰ و۴۰ درصد (وزنی-وزنی) نسبت به وزن خشک آگار قطره قطره به محلول آگار اضافه شد و به مدت زمان ۲ ساعت به‌طور مداوم همزده شد. بعد از رسیدن دمای محلول به ۶۰ درجه سانتی‌گراد در ظروف بزرگ پتری‌دیش ریخته شد و به مدت ۴۸ ساعت در دمای آزمایشگاه خشک شد (Kumar *et al.*, 2019). طبق آنالیز خواص مکانیکی و تعیین بهینه‌ترین میزان نرم‌کننده گلیسرول، در مرحله بعد برای ساخت بیوپلیمر آگار/ گلیسرول/ PVA، ۲۵ درصد (وزنی-وزنی) پلی‌ونیل‌الکل (PVA) به محلول بهینه ۲/۵ گرم پودر آگار استخراجی و گلیسرول اضافه شد (Madera-Santana *et al.*, 2014).

ارزیابی خواص بیوپلیمرها

درجه تورم

برای تعیین درجه تورم هر کدام از بیوپلیمرها، ابتدا هر کدام از بیوپلیمرها به طور تصادفی در سه تکرار در ابعاد ۵ cm × ۵ cm برش داده شد و پس از تعیین وزن اولیه (w_1)، به مدت ۴۵ دقیقه در آب مقطر غوطه‌ور شد. در مرحله بعد بیوپلیمرها از آب خارج شدند و پس از خشک کردن آب سطحی، وزن ثانویه (w_2) تعیین شد (Shankar and Rhim, 2017). درجه تورم هر کدام از فیلم‌ها مطابق فرمول ۳ محاسبه شد:

$$\text{Swelling ratio} = \left(\frac{W_2 - W_1}{W_1}\right) \times 100 \qquad (۳)$$

که در آن w_1 وزن خشک فیلم‌های زیستی و w_2 وزن نهایی فیلم‌های زیستی است.

حلالیت در آب

جهت تعیین میزان حلالیت در آب بیوپلیمرها، ابتدا فیلم‌ها در سه تکرار در ابعاد ۳ cm × ۳ cm برش داده شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد در آون خشک شد و سپس وزن اولیه (w_1) تعیین شد. هر بیوپلیمر در بشرهای جداگانه در حجم ۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر به مدت ۲۴ ساعت خیسانده شد. در مرحله بعد، بیوپلیمرها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد در آون خشک شد و سپس وزن ثانویه (w_2) محاسبه شد (Shankar & Rhim, 2017). درصد حلالیت هر کدام از بیوپلیمرها در آب طبق فرمول ۴ محاسبه شد:

$$\text{Water solubility} = \left(\frac{w_1 - w_2}{w_1}\right) \times 100 \qquad (۴)$$

که در آن w_1 وزن خشک فیلم‌های زیستی و w_2 وزن نهایی فیلم‌های زیستی است.

آزمون کشش

خواص مکانیکی فیلم‌های زیستی بر اساس استاندارد ASTM D 882 با استفاده از دستگاه تست جهانی Tinius OlsenH50 KT با اعمال یک سلول بارگذاری ۵۰۰ نیوتن با سرعت ۵ میلی‌متر در دقیقه اندازه‌گیری شد. هر نمونه (۱۰ cm × ۳ cm) به صورت عمودی در بین دو فک دستگاه قرار گرفت. فاصله اولیه دو فک دستگاه روی ۵۰ میلی متر و سرعت حرکت گیره در ۵۰ میلی‌متر در دقیقه تنظیم شد. ضخامت نمونه با استفاده از میکرومتر الکترونیکی با دقت ۱ میکرومتر اندازه‌گیری شد. مقادیر متوسط خواص مکانیکی استحکام (مگاپاسکال)، درصد انعطاف‌پذیری، مدول الاستیک (مگاپاسکال) و چقرمگی (ژول) از نتایج ۶ آزمایش محاسبه و به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شد.

طیف‌سنجی پراش پرتو ایکس

از طیف‌سنجی پراش پرتو ایکس جهت بررسی بیوپلیمرهای ساخته شده استفاده شد. این آزمون برای هر ۴ نمونه لایه نازک بیوپلیمر با ابعاد ۲ cm× ۲ cm، توسط دستگاه XRD مدل X'pert شرکت Philips ساخت کشور هلند انجام شد. الگوی پراش پرتو ایکس با وضوح بالا در 3 Kw با استفاده از طیف گسیل شده با طول موج ۱/۵۸ آنگستروم در ۴۰ kV و ۴۰mA اندازه‌گیری شد و در محدوده‌ی °۸۰ – °۵ = 2θ برای فیلم‌های زیستی ثبت گردید.

طیف‌سنجی بازتاب کلی ضعیف شده مادون قرمز تبدیل فوریه

برای شناسایی ساختار شیمیایی بیوپلیمرها ساخته شده از طیف‌سنجی بازتاب کلی ضعیف شده مادون قرمز تبدیل فوریه استفاده شد. برای این منظور از دستگاه ATR-FTIR مدل ALPHA-E همراه با Zn-Se ATR شرکت Bruker ساخت کشور آلمان استفاده شد. بیوپلیمرهای تهیه شده در محدوده‌ی طول موج cm^{-1} ۵۰۰–۴۰۰۰ اندازه‌گیری شد.

آزمون پایداری میوه و سبزیجات

بیوپلیمرهای ساخته شده برای آزمایش افزایش ماندگاری توت فرنگی مورد مطالعه قرار گرفت. توت فرنگی با اندازه، شکل، بلوغ و رنگ تقریباً مشابه از بازار محلی خریداری شد و با هر نمونه فیلم

کامپوزیت زیستی ۳ تکرار توت فرنگی پیچیده شد. توت فرنگی‌ها با ۳ تکرار بدون پوشش و به عنوان شاهد با فیلم پلاستیکی (پلی‌اتیلن) نگهداری شد. نمونه‌های بسته‌بندی شده برای شبیه‌سازی شرایط، در شرایط محیطی (دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد) نگهداری شد که در آن توسط فروشندگان و خرده‌فروشان محلی نگهداری می‌شوند و میوه‌های بسته‌بندی شده به طور مرتب تا ۵ روز ارزیابی شد (Kumar *et al.*, 2019).

آنالیز آماری

در این پژوهش تمامی آزمون‌های زیستی و غیرزیستی با سه بار تکرار انجام شد. تحلیل آماری نتایج با نرم افزار Excel 2019 و SPSS (V26.0 ; IBM Corp., USA) انجام شد. نمودارها با استفاده از نرم افزارهای Excel 2019 و Origin pro 2019 رسم و نتایج به وسیله آزمون ANOVA با مقدار معنی داری p کمتر از ۰/۰۵ ارزیابی و میانگین نتایج به همراه انحراف معیار (± SD) گزارش شد.

نتایج و بحث

بهینه‌سازی استخراج آگار و سنجش ترکیبات محلول آگار استخراج شده

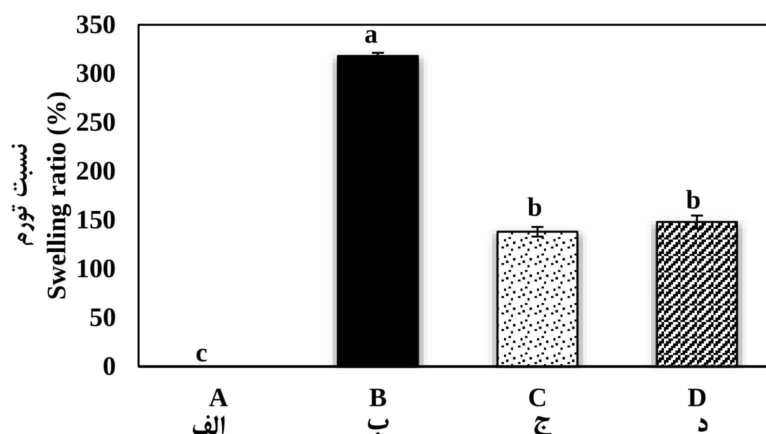
بازده استخراج ۱۵٪ برای روش پیش‌تیمار سدیم هیدروکسید/گرمادهی بدست آمد. نتایج سنجش میزان کل ترکیبات فنلی محلول آگار استخراج شده به روش پیش‌تیمار سدیم هیدروکسید/گرمادهی نشان داد که میزان ترکیبات فنولی محلول آگار ۰/۰۰۴ ± ۰/۰۷۷ بر حسب میلی‌گرم اسید گالیک/ گرم آگار است. نتایج حاصل از سنجش میزان پروتئین محلول آگار استخراج شده به روش برادفورد نشان داد که محلول آگار حاوی ۰/۰۱۹ ± ۰/۰۴۰ پروتئین بر حسب میلی‌گرم/میلی‌لیتر آگار است.

مقایسه بازده استخراج با مقادیری که قبلا در مقالات گزارش شده است به دلیل ۱- تنوع زیاد در پارامترهای استخراج مانند زمان استخراج، دمای استخراج و نسبت آب به جلبک دریایی گزارش شده در مقالات (Kumar and Fotedar, 2009; Mensi, 2019; Sousa *et al.*, 2010; Sudhakar *et al.*, 2021) و ۲-تنوع در محتوای آگار در گونه های مختلف جلبک دریایی مورد استفاده، بسیار پیچیده است (Sasuga *et al.*, 2017). یک واقعیت که به طور مداوم در مقالات متعددی گزارش شده است این است که پیش‌تیمار قلیایی منجر به کاهش قابل توجه بازده استخراج می‌شود. پیش‌تیمار قلیایی به دلیل تبدیل L-گالاکتوز-۶-سولفات (L-Galactose-6-sulphate) به ۳،۶-انهیدرو-Lگالاکتوز (3,6-anhydro-L-galactose) شناخته شده است، بنابراین توانایی ژل‌سازی آگار را بهبود می‌بخشد و منجر به افزایش قدرت ژل می‌شود. از سوی دیگر، آگار در طی تیمار قلیایی تحت تخریب و انتشار به سمت محیط آبی قرار می‌گیرد، بنابراین به طور قابل توجهی بازده استخراج را کاهش می‌دهد (Kumar and Fotedar, 2009; Martínez-Sanz *et al.*, 2019; Sasuga *et al.*, 2017). به‌علاوه مطالعات مشابه نشان داده است که استخراج آگار با یک مرحله پیش تیمار با سدیم هیدروکسید، باعث حداکثر میزان خلوص ژل آگار استخراجی با حداقل میزان ترکیبات فنولی و پروتئین خواهد شد و در نهایت استحکام کششی ژل استخراجی را بهبود می‌بخشد (Ganesan *et al.*, 2018; Martínez-Sanz *et al.*, 2019).

ارزیابی خواص بیوپلیمرها

درجه تورم و حلالیت در آب فیلم‌های زیستی

نتایج درجه تورم و درصد حلالیت بیوپلیمرها به ترتیب در شکل ۲ و شکل ۳ قابل مشاهده است. طبق نتایج به دست آمده (شکل ۲)، میزان درجه تورم آگار خالص۳/۲۵ ± ۳۱۸ است و درجه تورم PVA خالص، به دلیل حلالیت در آب بالا، صفر گزارش شد. افزودن گلیسرول به بیوپلیمر آگار، طبق انتظار باعث کاهش در میزان درجه تورم فیلم‌های زیستی تا ۴/۹۵ ± ۱۳۸ درصد شد. افزودن پلیمر PVA تاثیر چندانی بر میزان درجه تورم فیلم زیستی مبتنی بر آگار نداشت. نتایج جذب آب کامپوزیت‌های زیستی آگار خالص، PVA خالص، آگار/ گلیسرول و آگار/ گلیسرول/ PVA (شکل ۳) قابل مشاهده است. در مقابل، فیلم‌های زیستی آگار خالص و PVA خالص به ترتیب دارای کم‌ترین و بیش‌ترین میزان جذب آب است. افزودن گلیسرول به بیوپلیمر آگار باعث افزایش ۸۲ درصدی میزان جذب آب فیلم‌های کامپوزیتی شد. اما زمانی که PVA به بیوپلیمر آگار/ گلیسرول افزوده شد، درصد حلالیت بیوپلیمر به ۲/۳ ±۸/۲ درصد کاهش یافت. شبکه‌های قوی زنجیره‌های آگار از متلاشی شدن ماتریس فیلم در آب جلوگیری می‌کند و منجر به افزایش مقاومت در برابر نفوذ آب، یعنی افزایش درجه تورم و کاهش حلالیت در آب می‌شود (Wongphan and Harnkarnsujarit, 2020). بر این اساس، بر خلاف پلیمر PVA، فضاهای بین زنجیره‌های آگار خالص، بدون فروپاشی ساختاری آن‌ها، به‌طورچشمگیری با افزایش طول زنجیره‌های پلیمرآگار در تماس مستقیم با آب گسترش می‌یابد، که اجازه می‌دهد مقدار زیادی آب را حفظ کند (Lee *et al.*, 2021; Samadi *et al.*, 2018). افزودن گلیسرول به بیوپلیمر آگار، به دلیل اینکه گلیسرول کوچک مولکول بین زنجیره‌های پلیمری آگار نفوذ می‌کند و باعث تسهیل در باز شدن گره خوردگی‌های بین زنجیره‌ای آگار می‌شود، علاوه بر افزایش انعطاف‌پذیری، منجر به افزایش حلالیت در آب و کاهش درجه تورم فیلم‌های زیستی آگار/گلیسرول می‌شود.

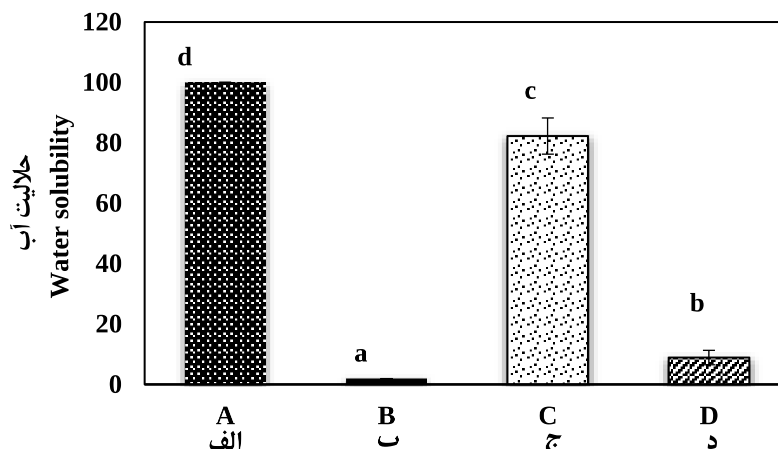


شکل ۲- درجه تورم کامپوزیت‌های زیستی (الف) پلی وینیل الکل، (ب) آگار،(ج) آگار/گلیسرول و (د) آگار/ گلیسرول/ پلی وینیل الکل

هر کدام از داده‌ها ذکر شده میانگین سه تکرار با ± انحراف معیار است.

Fig. 2- Swelling ratio of(a) PVA, (b) agar, (c) agar/glycerol and (d) agar/glycerol/PVA bio composites

Each of the mentioned data is the average of three replicates with ± standard deviation



شکل ۳- حلالیت در آب کامپوزیت‌های زیستی (الف) پلی وینیل الکل، (ب) آگار، (ج) آگار/گلیسرول و (د) آگار/ گلیسرول/ پلی وینیل الکل

هر کدام از داده‌ها ذکر شده میانگین سه تکرار با ± انحراف معیار است.

Fig. 3- Water solubility of (a) PVA, (b) agar, (c) agar/glycerol and (d) agar/glycerol/PVA biocomposites

Each of the mentioned data is the average of three replicates with ± standard deviation.

خواص مکانیکی فیلم‌های زیستی

ارزیابی خواص مکانیکی بیوکامپوزیت‌های برای کاربرد در صنایع بسته‌بندی مواد غذایی حائز اهمیت است. اثر غلظت گلیسرول بر استحکام کششی، انعطاف‌پذیری و مدول الاستیک بیوپلیمر آگار/گلیسرول و همچنین خواص مکانیکی بیوکامپوزیت‌های آگار خالص، PVA خالص و آگار/ گلیسرول (۳۰٪) PVA طبق نتایج به‌دست آمده در جدول ۱ قابل مشاهده است. تجزیه و تحلیل داده‌ها (جدول ۱) نشان داد که افزودن گلیسرول به بیوپلیمر آگار، به دلیل اینکه گلیسرول کوچک مولکول می‌باشد بین زنجیره پلیمری آگار نفوذ کرده و بعنوان یک نرم‌کننده تحرک زنجیره‌های پلیمری آگار را افزایش داده و با کاهش میزان گره‌خوردگی بین زنجیره‌های آگار بطور نسبی باعث کاهش مدول الاستیک (سفتی) و استحکام و در مقابل باعث افزایش درصد کرنش در شکست (انعطاف‌پذیری) شده‌است. این یافته نشان می‌دهد که فیلم‌های آگار با افزایش گلیسرول نرم‌تر و انعطاف‌پذیرتر شدند (Madera-Santana *et al*., 2014). با توجه به اینکه در بیوپلیمر آگار حاوی ۳۰٪ وزنی گلیسرول انعطاف‌پذیری بطور قابل ملاحظه‌ای بهبود یافته و در عین حال افت سفتی و استحکام قابل توجه نیست، نمونه حاوی ۳۰٪ وزنی گلیسرول به‌عنوان نمونه بهینه در نظر گرفته می‌شود. همانطور که در جدول ۱ دیده می‌شود، افزودن PVA به فیلم زیستی آگار/ گلیسرول (۳۰٪) باعث افزایش استحکام از حدود ۹/۲ ±

۳۵/۴۲ مگاپاسکال به ۵/۵۳ ± ۴۱/۳۶ مگا پاسکال می شود. با توجه به اینکه استحکام کششی PVA از آگار بیش‌تر است، افزایش استحکام در کامپوزیت به جایگزینی آگار (بخشی از آن) با PVA و همچنین برقراری پیوند هیدروژنی بین مولکول آگار و PVA مرتبط هست (Lee *et al*., 2021). کاهش مدول کششی(سفتی) نمونه آگار/گلیسرول از ۰/۴۹ ± ۱/۳۹ مگاپاسکال به ۰/۰۱± ۰/۳۶ مگاپاسکال با افزودن PVA علی‌رغم بالاتر بودن سفتی PVA خالص از آگار/گلیسرول، به عدم امتزاج‌پذیری PVA با آگار به‌دلیل ساختار شمیایی متفاوت، ارتباط دارد. در نتیجه فصل مشترک به نسبت ضعیف تشکیل شده بین این دو جز در کامپوزیت، باعث کاهش مدول الاستیک (سفتی) می‌شود. کرنش در شکست آگار/گلیسرول حدود ۵٪ می‌باشد که در نمونه کامپوزیتی به حدود ۲/۵ درصد کاهش می‌یابد. کاهش نسبی انعطاف‌پذیری نمونه کامپوزیتی به انعطاف‌پذیری پایین جز PVA (کرنش در شکست برابر با ۲/۱ ٪) در مقاسیه با انعطاف‌پذیری آگار/گلیسرول ارتباط دارد.

جدول ۱- ضخامت و خواص مکانیکی آزمون کشش کامپوزیت‌های زیستی ساخته شده: پلی‌وینیل الکل، آگار، آگار/گلیسرول و آگار/گلیسرول/پلی وینیل الکل

Table 1- Thickness and mechanical properties of tensile test of bio composites made: PVA, agar, agar/glycerol and agar/glycerol/PVA

Sample **نمونه**	**Elastic modulus (GPa) *10 $^{-3}$ مدول الاستیک**	**Elongation at break (%) انعطاف‌پذیری**	**Tensile strength (MPa) استحکام**	**Thickness (mm) ضخامت**
پلی‌وینیل الکل خالص Pure PVA	2.30 ± 0.12	2.1 ± 0.03	48.46 ± 0.05	0.10
آگار خالص Pure agar	7.87 ± 0.15	1.48 ± 0.02	32.46 ± 0.02	0.025
آگار/گلیسرول ۱۰ درصد Agar/ glycerol (10%)	1.00±0.20	3.32±1.48	22.93±3.78	0.040
آگار/گلیسرول ۲۰ درصد Agar/glycerol (20%)	0.41±0.04	3.96±1.22	16.21±3.22	0.035
آگار/ گلیسرول ۳۰ درصد Agar/glycerol (30%)	1.39 ± 0.46	12.97 ± 3.81	35.42 ± 9.2	0.035
آگار/ گلیسرول ۴۰ درصد Agar/ glyceol (40%)	0.07±0.02	19.17±3.61	9.33±2.76	0.030
آگار/ گلیسرول ۳۰ درصد/ پلی‌وینیل الکل Agar/ glycerol (30%)/PVA	0.36 ± 0.01	2.49 ± 0.34	41.36 ± 5.53	0.032

*داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده‌اند.

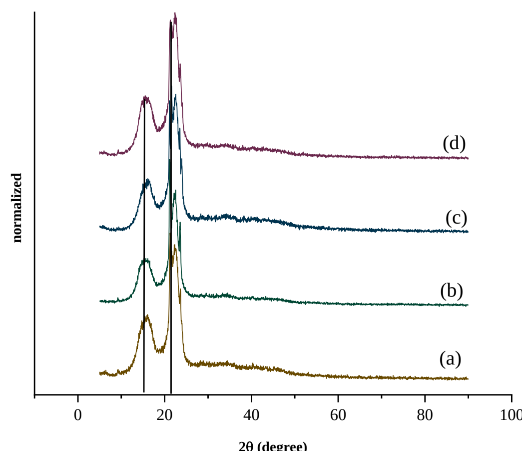
* The data shown are the standard deviation ± mean.

طیف‌سنجی پراش پرتو ایکس

نتایج آنالیز و تشخیص فاز کامپوزیت‌های زیستی بر پایه پلیمر آگار استخراجی (شکل ۴) نشان داده شده است. براساس الگوی طیفی پراش پرتوی ایکس، زاویه پراش 2θ در ۲۰/۵ به صفحه (۱۰۱) با تداخل بین مولکولی در بین زنجیره‌های PVA مرتبط است و اطلاعات مفیدی در مورد ویژگی پیوندهای هیدروژنی ارائه می‌دهد. همچنین زاویه پراش 2θ در ۱۴/۹ و ۲۰ نیز مشخص‌کننده فاز پلیمر پایه آگار است، که برای همه نمونه‌های مورد مطالعه مشاهده شده‌است. ضمنا قابل ذکر می باشد که با توجه به عدم تغییر زاویه و شدت پیک‌ها PVA در نتایج XRD به واسطه افزودن گلیسرول و یا آگار بنظر می‌رسد تغییری در ساختار بلورهای PVA صورت نگرفته است.

طیف‌سنجی بازتاب کلی ضعیف شده مادون قرمز تبدیل فوریه

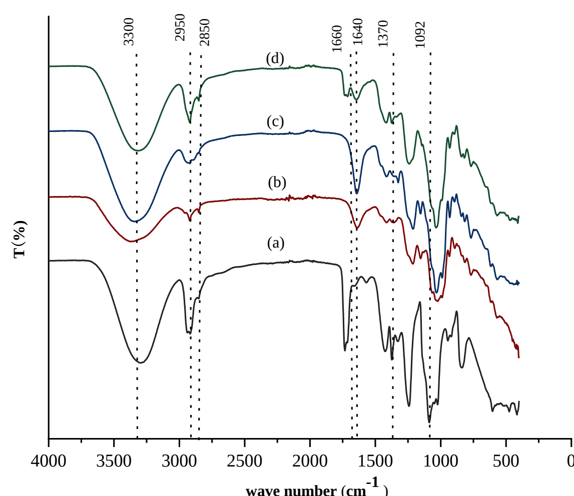
بیوکامپوزیت‌های PVA، آگار، آگار/ گلیسرول وآگار/ گلیسرول/ PVA توسط آزمون طیف‌سنجی بازتاب کلی ضعیف شده مادون قرمز تبدیل فوریه (FTIR) مورد ارزیابی قرار گرفت (شکل ۵). طیف مربوط به فیلم PVA ، نوارهای معمولی را برای پلیمر مصنوعی پلی‌وینیل‌الکل با باند جذب گسترده بین $3600-3100\ cm^{-1}$، در محدوده‌های ۱۶۶۰– ۱۶۵۰ و ۱۰۹۰ cm^{-1} نشان می‌دهد (Madera-Santana *et al*., 2014).



شکل ٤- مقایسه الگوی پراش پرتو ایکس مربوط به (الف) پلی‌وینیل الکل، (ب) آگار، (ج) آگار/گلیسرول و (د) آگار/ گلیسرول/ پلی‌وینیل الکل

Fig. 4- Comparison of X-ray diffraction (XRD) patterns of (a) PVA, (b) agar, (c) agar/glycerol and (d) agar/ glycerol/ PVA

پیک در گستره $3300\ cm^{-1}$ به ارتعشات گروه هیدروکسیل (O-H)، در گستره $1092\ cm^{-1}$ مربوط به ارتعاشات کششی گروه کربونیل (C-O) و پیک در گستره $1660\ cm^{-1}$ می‌توان به ارتعاشات مرتبط به اسکلت بنزن نسبت داد (Nguyen *et al.*, 2021; Orsuwan *et al.*, 2016; Shankar and Rhim, 2017). در طیف فیلم زیستی آگار خالص یک پیک فشرده در گستره‌ی $1640\ cm^{-1}$ مشاهده شد که مربوط به کشش پیوند پپتیدی مزدوج تشکیل شده توسط گروه آمین (NH) و گروه کربونیل (C-O) است که با افزودن PVA کاهش می‌یابد (Madera-Santana *et al.*, 2014; Orsuwan *et al.*, 2016; Shankar and Rhim, 2017). رفتار مشابهی در گستره $1370\ cm^{-1}$ مشاهده می‌شود که به استر سولفات مرتبط است (Madera-Santana *et al.*, 2014). همچنین پیک در گستره $2950-2850\ cm^{-1}$ به گروه متوکسیل مرتبط است که با افزودن آگار تغییرات قابل‌توجهی نشان داد (Madera-Santana *et al.*, 2014). افزایش شدت پیک با افزودن گلیسرول در گستره $3300\ cm^{-1}$، به رفتار آب‌دوستی گلیسرول و تشکیل پیوندهای هیدروژنی ارتعاشی تک‌پل در تعامل با ساختار آگار و PVA نسبت داده می‌شود (Madera-Santana *et al.*, 2014).

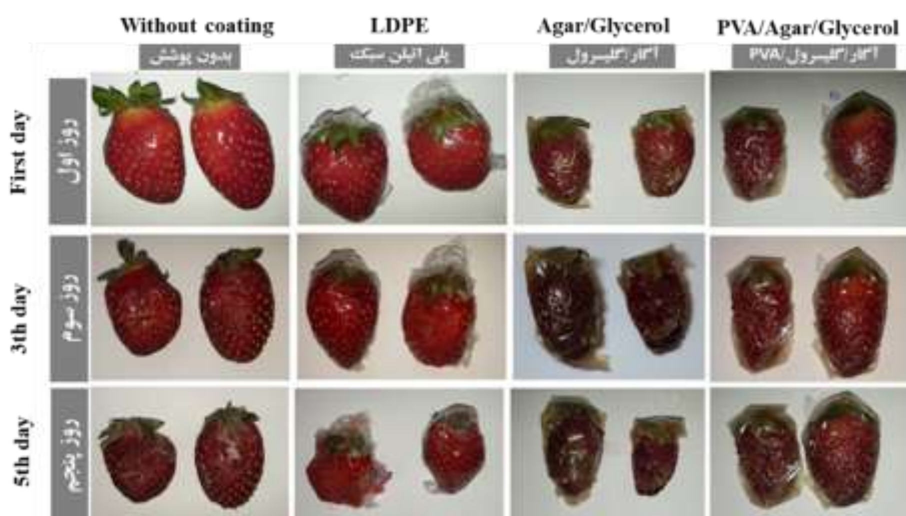


شکل ۵- طیف‌سنجی بازتاب کلی ضعیف شده مادون قرمز تبدیل فوریه کامپوزیت زیستی (الف) PVA، (ب) آگار، (ج) آگار/گلیسرول و (د) آگار/ گلیسرول/ PVA

Fig. 5- FTIR spectrum of bio composite (a) PVA, (b) agar, (c) agar/glycerol and (d) agar/glycerol/PVA

آزمون پایداری میوه

در این آزمون، توت فرنگی با کامپوزیت‌های زیستی آگار/گلیسرول وآگار/ گلیسرول/ PVA با ۳ تکرار پوشانده شد (شکل ۶). همچنین به منظور مقایسه اثر کامپوزیت‌های زیستی ساخته شده بر پایه آگار در نگهداری میوه، با پلی اتیلن بازاری نیز پوشانده شد. خصوصیات ظاهری توت فرنگی در روزهای ۱، ۳ و ۵ با پوشش کامپوزیت زیستی، پلی‌اتیلن و بدون پوشش به صورت بصری بررسی شد (Kumar *et al*., 2019). همان‌طور که در شکل ۶ قابل مشاهده است، همه توت فرنگی‌ها در روز اول کاملا سالم و دارای رنگ طبیعی است.با گذشت زمان تا روز سوم، توت فرنگی بدون پوشش و دارای پوشش پلی‌اتیلن دچار از دست دادن طراوت و تغییر رنگ شدند. همچنین توت فرنگی با پوشش کامپوزیتی آگار/گلیسرول در روز سوم مستعد پوسیدگی بود. در روز پنجم، توت فرنگی بدون پوشش، با پوشش پلی‌اتیلن و دارای پوشش کامپوزیت زیستی آگار/ گلیسرول دچار پوسیدگی و کپک زدگی شدند. همچنین توت‌فرنگی با پوشش کامپوزیت زیستی آگار/ گلیسرول/ PVA، اندکی دچار از دست دادن تازگی و طراوت و تیرگی شد. بررسی‌ها کاربردوکامپوزیت زیستی بر پایه آگار را برای نگهداری میوه را به مدت یک هفته تایید می‌کند.



شکل ٦- کاربرد بیوکامپوزیت‌های آگار/گلیسرول و آگار/ گلیسرول/ پلی وینیل الکل در بسته‌بندی و خواص ظاهری توت فرنگی (*Fragaria ananassa*) در مدت زمان ۵ روز در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد

Fig. 6- Application of agar/glycerol and agar/glycerol/PVA biocomposites in packaging and appearance properties of strawberry (*Fragaria ananassa*) and broccoli (Brassica oleracea) during 5-10 days at 25°C

نتیجه‌گیری

هدف مطالعه حاضر، ساخت پلاستیک زیستی بر پایه پلیمر آگار استخراج شده از ماکروجلبک قرمز گونه *Acanthophora* sp. و بهینه سازی خواص مکانیکی، فیزیکی و زیستی کامپوزیت‌های زیستی بر پایه پلیمر آگار، با افزودن گلیسرول (به عنوان نرم‌کننده) و پلیمر صنعتی زیست تخریب‌پذیر پلی‌ونیل‌الکل است. استخراج آگار از ماکروجلبک قرمز *Acanthophora* با استفاده از روش استخراج گرمادهی و یک مرحله پیش تیمار سدیم هیدروکسید، محلول آگار به دست آمده عمدتا از آگار خالص تشکیل شده که دارای میزان ترکیبات فنلی و پروتئین کم است و محلول شفاف تقریبا بی‌رنگ بدست آمد. خلوص بیش‌تر محلول آگار منجر به افزایش استحکام ژل استخراجی شد که برای استفاده در صنایع بسته‌بندی بهینه است. در ادامه برای ساخت فیلم‌های زیستی مناسب بر پایه پلیمر آگار، از گلیسرول به عنوان نرم‌کننده و پلیمر صنعتی پلی‌ونیل‌الکل،جهت تقویت خواص مکانیکی و فیزیکی کامپوزیت‌های زیستی استفاده شد. افزودن پلیمر PVA باعث افزایش در میزان استحکام کششی و بهبود خواص فیزیکی نظیر افزایش درجه تورم، کاهش درصد حلالیت در آب فیلم‌های زیستی بر پایه آگار شد. همچنین نتایج استفاده از این پوشش‌ها جهت بسته‌بندی میوه و سبزیجات در مناطق گرمسیری با افزایش طول عمر مفید آن‌ها به مدت حداقل تا ۵ روز در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد تایید می‌کند. علاوه‌براین، استفاده از بسته‌بندی جدید بر پایه‌ی پلیمرهای طبیعی، کم هزینه و در دسترس است، پتانسیل زیادی در حفظ محصولات کشاورزی پس از برداشت، ارائه و از مشکل توزیع و ذخیره‌سازی کالاهای گرمسیری جلوگیری می‌کنند و همچنین باعث کاهش استفاده از بسته‌بندی‌های مصنوعی می‌شود، که در حال حاضر مشکل شدید آلودگی محیط زیستی، ایجاد کرده‌اند.

سپاسگزاری

این پژوهش توسط بنیاد ملی نخبگان (دوره پنجم طرح احمدی روشن)، وزرات علوم و تحقیقات و همچنین مرکز رشد دانشگاه هرمزگان مورد حمایت بوده است.

منابع

1. Abdullah, A.H.D., Fikriyyah, A.K., Putri, O.D., & Asri, P.P.P. (2019). *Fabrication and characterization of poly lactic acid (PLA)-starch based bioplastic composites.* IOP Conference Series: Materials Science and Engineering, https://doi.org/10.1016/j.polymertesting.2023.108000
2. Arham, R., Salengke, S,. Metusalach, M., & Mulyati, M. (2018). Optimization of agar and glycerol concentration in the manufacture of edible film. *International Food Research Journal*, *25*(5), 1845-1851.
3. Basumatary, K., Daimary, P., Das, S.K., Thapa, M., Singh, M., Mukherjee, A. & Kumar, S. (2018). Lagerstroemia speciosa fruit-mediated synthesis of silver nanoparticles and its application as filler in agar based nanocomposite films for antimicrobial food packaging. *Food Packaging and Shelf Life*, *17*, 99-106. https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2018.06.003
4. da Rocha, M., de Souza, M.M., & Prentice, C. (2018). *Biodegradable films: An alternative food packaging* [Interview]. Elsevier .https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811516-9.00009-9
5. Fakhouri, F.M., Costa, D., Yamashita, F., Martelli, S.M., Jesus, R.C., Alganer, K., Collares-Queiroz, F.P., & Innocentini-Mei, L.H. (2013). Comparative study of processing methods for starch/gelatin films. *Carbohydrate Polymers*, *95*(2), 681-689 .https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.03.027
6. Fakhouri, F.M., Martelli, S.M., Bertan, L.C., Yamashita, F., Mei, L.H.I., & Queiroz, F.P.C. (2012). Edible films made from blends of manioc starch and gelatin–Influence of different types of plasticizer and different levels of macromolecules on their properties. *LWT*, *49*(1), 149-154. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.04.017
7. Ganesan, A.R., Shanmugam, M., Palaniappan, S., & Rajauria, G. (2018). Development of edible film from *Acanthophora spicifera*: Structural, rheological and functional properties. *Food Bioscience*, *23*, 121-128. https://doi.org/10.1016/j.fbio.2017.12.009
8. Haghighi, H., Gullo, M., La China, S., Pfeifer, F., Siesler, H.W., Licciardello, F., & Pulvirenti, A. (2021). Characterization of bio-nanocomposite films based on gelatin/polyvinyl alcohol blend reinforced with bacterial cellulose nanowhiskers for food packaging applications. *Food Hydrocolloids*, *113*, 106454 . https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106454
9. Hasan, M., & Rahmayani, R.F.I., (2018). *Bioplastic from chitosan and yellow pumpkin starch with castor oil as plasticizer*. IOP Conference Series: Materials Science and Engineering,(Vol. 333,p, 012087). IOP Publishing.
10. Hernández, V., Ibarra, D., Triana, J.F., Martínez-Soto, B., Faúndez, M., Vasco, D.A., Gordillo, L., Herrera, F., García-Herrera, C., & Garmulewicz, A. (2022). Agar biopolymer films for biodegradable packaging: A reference dataset for exploring the limits of mechanical performance. *Materials*, *15*(11), 3954. https://doi.org/10.3390/ma15113954
11. Hii, S.-L., Lim, J.-Y., Ong, W.-T., & Wong, C.-L. (2016). Agar from Malaysian red seaweed as potential material for synthesis of bioplastic film. *Journal of Engineering Science and Technology*, *11*, 1-15.
12. Hong, S.-I., Cho, Y., & Rhim, J.-W. (2021). Effect of agar/AgNP composite film packaging on refrigerated beef loin quality. *Membranes*, *11*(10), 750. https://doi.org/10.3390/membranes11100750
13. Kumar, S., Boro, J.C., Ray, D., Mukherjee, A., & Dutta, J. (2019). Bionanocomposite films of agar incorporated with ZnO nanoparticles as an active packaging material for shelf life extension of green grape. *Heliyon*, *5*(6), e01867. https://doi.org/10.1016%2Fj.heliyon.2019.e01867
14. Kumar, S., Shukla, A., Baul, P.P., Mitra, A., & Halder, D. (2018). Biodegradable hybrid nanocomposites of chitosan/gelatin and silver nanoparticles for active food packaging applications. *Food Packaging and Shelf Life*, *16*, 178-184. https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2018.03.008
15. Kumar, V., & Fotedar, R. (2009). Agar extraction process for *Gracilaria cliftonii* (Withell, Millar, & Kraft, 1994). *Carbohydrate Polymers*, *78*, 813-819 . https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2009.07.001
16. Lee, J.-S., Choi, I., & Han, J. (2021). Mathematical modeling of cinnamon (*Cinnamomum verum*) bark oil release from agar/PVA biocomposite film for antimicrobial food packaging: The effects of temperature and relative humidity. *Food Chemistry*, 130306. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130306
17. Madera-Santana, T., Freile-Pelegrín, Y., & Azamar-Barrios, J. (2014). Physicochemical and morphological properties of plasticized poly (vinyl alcohol)–agar biodegradable films. *International Journal of Biological Macromolecules*, *69*, 176-184. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.05.044

18. Madera-Santana, T.J., Robledo, D., & Freile-Pelegrín, Y. (2011). Physicochemical properties of biodegradable polyvinyl alcohol–agar films from the red algae *Hydropuntia cornea*. *Marine Biotechnology*, *13*(4), 793-800. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.02.158
19. Madera‐ Santana, T., Misra, M., Drzal, L., Robledo, D., & Freile‐ Pelegrin, Y. (2009). Preparation and characterization of biodegradable agar/poly (butylene adipate‐ co‐ terephatalate) composites. *Polymer Engineering & Science*, *49*(6), 1117-1126 .https://doi.org/10.1002/pen.21389
20. Marichelvam, M.K., Jawaid, M., & Asim, M. (2019). Corn and rice starch-based bio-plastics as alternative packaging materials. *Fibers*, *7*(4), 32 . https://doi.org/10.3390/fib7040032
21. Marichelvam, M., Manimaran, P., Sanjay, M., Siengchin, S., Geetha, M., Kandakodeeswaran, K., Boonyasopon, P., & Gorbatyuk, S. (2022). Extraction and development of starch-based bioplastics from *Prosopis juliflora* Plant: Eco-friendly and sustainability aspects. *Current Research in Green and Sustainable Chemistry*, *5*, 100296 . https://doi.org/10.1016/j.crgsc.2022.100296
22. Martínez-Sanz, M., Gómez-Mascaraque, L.G., Ballester, A.R., Martínez-Abad, A., Brodkorb, A., & López-Rubio, A. (2019). Production of unpurified agar-based extracts from red seaweed Gelidium sesquipedale by means of simplified extraction protocols. *Algal Research*, *38*, 101420. https://doi.org/10.1016/j.algal.2019.101420
23. Mathew, S., Mathew, J,. & Radhakrishnan, E. (2019). Polyvinyl alcohol/silver nanocomposite films fabricated under the influence of solar radiation as effective antimicrobial food packaging material. *Journal of Polymer Research*, *26*(9), 1-10 . https://doi.org/10.1007/s10965-019-1888-0
24. Mensi, F. (2019). Agar yield from R-phycoerythrin extraction by-product of the red alga *Gracilaria verrucosa*. *Journal of Applied Phycology*, *31*(1), 741-75 https://doi.org/10.1007/s10811-018-1533-z .
25. Nguyen, T.T., Nguyen, T.-T.H., Pham, B.-T.T., Van Tran, T., Bach, L.G., Thi, P.Q.B., & Thuc, C.H. (2021). Development of poly (vinyl alcohol)/agar/maltodextrin coating containing silver nanoparticles for banana (*Musa acuminate*) preservation. *Food Packaging and Shelf Life*, *29*, 100740. https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2021.100740
26. Orsuwan, A., Shankar, S., Wang, L.-F., Sothornvit, R., & Rhim, J.-W. (2016). Preparation of antimicrobial agar/banana powder blend films reinforced with silver nanoparticles. *Food Hydrocolloids*, *60*, 476-485. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.04.017
27. Rhim, J.-W. (2011). Effect of clay contents on mechanical and water vapor barrier properties of agar-based nanocomposite films. *Carbohydrate Polymers*, *86*(2), 691-699. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.05.010
28. Rhim, J., Wang, L., & Hong, S. (2013). Preparation and characterization of agar/silver nanoparticles composite films with antimicrobial activity. *Food Hydrocolloids*, *33*(2), 327-335. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.04.002
29. Samadi, N., Sabzi, M., & Babaahmadi, M. (2018). Self-healing and tough hydrogels with physically cross-linked triple networks based on Agar/PVA/Graphene. *International Journal of Biological Macromolecules*, *107*, 2291-2297. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.10.104
30. Sasuga, K., Yamanashi, T., Nakayama, S., Ono, S., & Mikami, K. (2017). Optimization of yield and quality of agar polysaccharide isolated from the marine red macroalga Pyropia yezoensis. *Algal Research*, *26*, 123-130. https://doi.org/10.1016/j.algal.2017.07.010
31. Shankar, S., & Rhim, J.-W. (2017). Preparation and characterization of agar/lignin/silver nanoparticles composite films with ultraviolet light barrier and antibacterial properties. *Food Hydrocolloids*, *71*, 76-84 . https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.05.002
32. Shankar, S., Teng, X., & Rhim, J.-W. (2014). Properties and characterization of agar/CuNP bionanocomposite films prepared with different copper salts and reducing agents. *Carbohydrate Polymers*, *114*, 484-492 . https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.08.036
33. Soleimani, S., Yousefzadi, M., Nezhad, S.B.M., Pozharitskaya, O.N., & Shikov, A.N. (2022). Evaluation of fractions extracted from *Polycladia myrica*: biological activities, UVR protective effect, and stability of cream formulation based on it. *Journal of Applied Phycology*, *34*(3), 1763-1777 . https://doi.org/10.1007/s10811-022-02705-2
34. Sousa, A. M., Alves, V., Morais, S., Delerue-Matos, C., & Gonçalves, M.P. (2010). Agar extraction from integrated multitrophic aquacultured *Gracilaria vermiculophylla*: evaluation of a microwave-assisted process using response surface methodology. *Bioresource technology*, *101*(9), 3258-3267. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.12.061
35. Spierling, S., Knüpffer, E., Behnsen, H., Mudersbach, M., Krieg, H., Springer, S., Albrecht, S., Herrmann, C., & Endres, H.-J. (2018) Bio-based plastics-A review of environmental, social and economic impact assessments. *Journal of Cleaner Production*, *185*, 476-491. https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.03.014
36. Sudhakar, M.P., Magesh Peter, D., & Dharani, G. (2021). Studies on the development and characterization of bioplastic film from the red seaweed (*Kappaphycus alvarezii*). *Environmental Science and Pollution Research*, *28*(26), 33899-33913. https://doi.org/10.1007/s11356-020-10010-z
37. Suryanegara, L., Fatriasari, W., Zulfiana, D., Anita, S.H., Masruchin, N., Gutari, S., & Kemala, T. (2021). Novel antimicrobial bioplastic based on PLA-chitosan by addition of TiO_2 and ZnO. *Journal of Environmental Health Science and Engineering*, *19*(1), 415-425. https://doi.org/10.1007/s40201-021-00614-z

38. Susilawati, S., Rostini, I., Pratama, R.I., & Rochima, E. (2019). Characterization of bioplastic packaging from tapioca flour modified with the addition of chitosan and fish bone gelatin. *World Scientific News*, *135*, 85-98.
39. Wongphan, P., & Harnkarnsujarit, N. (2020). Characterization of starch, agar and maltodextrin blends for controlled dissolution of edible films. *International Journal of Biological Macromolecules*, *156*, 80-93. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.04.056
40. Wulandari, D., Hermiyati, I., Iswahyuni, I., & Tawarniate, A.Z. (2022). Production and characterization of gelatin from rabbit bone as bioplastics material by acid pre-treatment. *World Rabbit Science*, *30*(1): 83-93.
41. Yusoff, N.H., Pal, K., Narayanan, T., & de Souza, F.G. (2021). Recent trends on bioplastics synthesis and characterizations: Polylactic acid (PLA) incorporated with tapioca starch for packaging applications. *Journal of Molecular Structure*, *1232*, 129954. https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2021.129954